Vergleichende Studien an Proteinextrakten normaler und maligne entarteter menschlicher Organe: Normale Rektumschleimhaut und Adenocarcinom des Rektums

Unter Verwendung verschiedener Färbe- und Fermentmethoden, sowie der immunoelektrophoretischen Differenzierung mit entsprechenden Antiseren

von

Wolfgang Schramm

aus Breslau

1961

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535725_0020

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr.med. N. H e n n i n g

Vergleichende Studien an Proteinextrakten normaler und maligne entarteter menschlicher Organe: Normale Rektumschleimhaut und Adenocarcinom des Rektums.

Unter Verwendung verschiedener Färbe- und Fermentmethoden, sowie der immunoelektrophoretischen Differenzierung mit entsprechenden Antiseren.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität

zu

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Wolfgang Schramm

aus Breslau

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr.med. Ober
Referent: Professor Dr.med. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Oktober 1966

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1 - 2
II.	Untersuchungsgut, Versuchsanordnung und Methodik	2 - 4
	1. Untersuchungsgut	2
	2. Versuchsanordnung	2
	3. Methodik	
	a) Aufbereitung der Organe	3
	b) Elektrophorese im Agar - Gel, Färbemethoden und Fermentreaktionen	3 - 4
	c) Immunoelektrophorese	4
	d) Herstellung der Organ-Antiseren	4
III.	Versuchsergebnisse	5 - 15
	1. Charakterisierung der Gewebeextrakte auf Grund der elektrophoretisch und biochemisch faßbaren Eigenschaften:	
	a) Proteinfärbung	5 - 6
	b) Kohlehydratfärbung	6
	c) Lipoidfärbung	7
	d) Coeruloplasmindarstellung	7
	e) Fermentreaktion der alkalischen Phosphatase	8
	f) Fermentreaktionen zum Nachweis von Esterasen durch die Ester des Indoxyls und die Ester des Beta - Naphthyls	8 - 9
	g) Fermentreaktion zum Nachweis amylaseaktiver Komponenten	9 - 10
	h) Fermentreaktion der Laktatdehydrogenase	10 - 11

Seite

2. Charakterisierung der Gewebeextrakte auf Grund immunologischer Eigenschaften 11 - 14
a) Zweidimensionale Immunodiffusion 11 - 12
b) Immunoelektrophorese 12 - 14

3. Verhalten der Serumeiweißkörper der Kaninchen während der Sensibilisierung 14 - 15

IV. Diskussion 15 - 24

V. Zusammenfassung 25

VI. Literaturverzeichnis 26 - 33

I. Einleitung:

Zur Frage eines spezifischen, biochemisch fassbaren Kriteriums maligne entarteter Gewebe wurden in der Literatur bereits umfassende Einzelmitteilungen veröffentlicht. (4 , 15 , 16 , 18 , 20 , 21 , 24 , 27 , 40 , 45). Die meisten Angaben beschränken sich auf nur einzelne gezielte Fragestellungen, etwa die Unterschiedlichkeiten in der Verteilung von Isoenzymen normaler und maligner Gewebe (1 , 17 , 25 , 26 , 39) oder von immunologischen Eigenschaften (3 , 11 , 22 , 47) u.a.m. Systematische vergleichende Untersuchungen an einzelnen Extraktpaaren (normales Organ und entsprechendes Tumorgewebe) liegen unseres Wissen nicht vor. In früheren, eigenen Studien wurde versucht, für eine Reihe menschlicher Organextrakte die Protein- und Fermentmuster aufzuklären (6 , 8 , 9, 10 32, 33, 35, 36). Diese Ergebnisse werden den nun folgenden

vergleichenden Untersuchungen an pathologisch verändertem, d.h. Tumorgewebe zugrunde gelegt.
In der vorliegenden Arbeit wurden die Gewebeproteine der maligne entarteten Rektumschleimhaut, d.h. eines Adenocarcinoms im Vergleich zur normalen Schleimhaut untersucht.

II. Untersuchungsgut, Versuchsanordnung und Methodik:

1) Untersuchungsgut:

Untersucht wurden das Operationspräparat eines frisch resezierten, histologisch gesicherten Adenocarcinoms des Rektums und ein analoges Rektumpräparat von der Leiche. Die Organe kamen nicht später als 2 Stunden post operationem bez. 7 Stunden post mortem zur Verarbeitung. Die Präparate wurden homogenisiert. Aus dem homogenisierten Substraten wurden wässrige Extrakte hergestellt.

2) Versuchsanordnung:

Die Extrakte wurden agarelektrophoretisch aufgetrennt, die einzelnen Komponenten färberisch und durch Fermentreaktionen sowie immunologisch charakterisiert. Die immunologische Differenzierung erfolgte mit Hilfe der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY und der Immunoelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS. Hierbei wurden ein Antihumanserum, sowie die jeweils selbst hergestellten spezifischen Antiextraktseren verwendet.

3) Methodik:

a) Aufbereitung der Organe (7,9)

Von den Organen wurden Fettsubstanz und Bindegewebe weitgehend abpräpariert, die Präparate danach grob zerkleinert und zur Entblutung in einem abgedeckten System unter fließendem Wasser 4 Stunden lang gespült. Anschließend wurden die Gewebestückchen im Multimix fein zertrümmert und danach unter Zugabe von Aqua dest. im Ultra Turrax - Gerät homogenisiert. Dieser Organextrakt wurde 30 min bei 12 000 U/min in der Kühlzentrifuge zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und gegen 20 %iges Kollidon in Dialysierschläuchen zwei Tage lang im Kühlschrank bei + 4°C eingeengt.

b) Elektrophorese im Agar-Gel, Färbemethoden und Fermentreaktionen

Die technischen Angaben zur einfachen Elektrophorese im Agargel, sowie die Arbeitsvorschriften für Färbemethoden und Fermentreaktionen mögen dem einschlägigen Schrifttum entnommen werden (5,12,13,14,28,38,46). Die Rektumschleimhautextrakte wurden zunächst mit der einfachen Elektrophorese im Agargel in typischer Weise aufgetrennt. Die Charakterisierung der einzelnen Komponenten erfolgte durch folgende Färbungen und Fermentreaktionen:

1. Proteinfärbung mit Amidoschwarz 10 B (5,42).
2. Kohlehydratfärbung (31,42,43).
3. Lipoidfärbung mit Sudanschwarz B (5,31,42).
4. Coeruloplasmindarstellung (29,44).
5. Nachweis der alkalischen Phosphatase (30).
6. Fermentreaktion zum Nachweis amylaseaktiver Komponenten (19,34).

7. Fermentreaktion zum Nachweis von Esterasen durch die Ester des Indoxyls und durch die Ester des Beta - Naphthyls (14,37).
8. Fermentreaktion der Laktatdehydrogenase (41).

c) Immunoelektrophorese (5, 12, 13, 14):

Die Rektumschleimhautextrakte wurden immunoelektrophoretisch analysiert und zwar jeweils gegen Anti-Humanserum, Anti-Rektumnormalserum und Anti-Rektumcarcinomserum. Schließlich wurden die verschiedenen Antiseren mit konträren Extrakten versetzt. Im einzelnen wurden von den Extrakten pro Analyse 0,2 ml Extrakt mit 0,2 ml Agar gemischt und davon 0,05 ml aufgetragen.

Die Immunseren wurden folgendermaßen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt : Antihumanserum 1 : 1,5
Anticolonserum 2 : 1
Anticarcinomserum 2 : 1

d) Herstellung der Organ - Antiseren:

Sie erfolgte durch Sensibilisierung von je zwei Kaninchen mit den entsprechenden Extrakten nach folgendem Injektionsschema:

Kaninchen	4.11.	13.11.	19.11.	20.11.	23.11.	25.11.	26.11.	3.12.	16.12.
I u. II je (Carcinom)	2,5 ml i.m. 1 ml i.v.	1,5 ml i.m.	0,25 ml s.c.	0,4 ml s.c.	0,8 ml s.c.	1,1 ml s.c.	2,5 ml i.m.	1,8 ml i.m.	
III u. IV je (Normal)	2,5 ml i.m. 1 ml i.v.	1,5 ml i.m.	0,25 ml s.c.	0,4 ml s.c.	0,8 ml s.c.	1,1 ml s.c.	2,5 ml i.m.	1,8 ml i.m.	0,3 ml s.c.

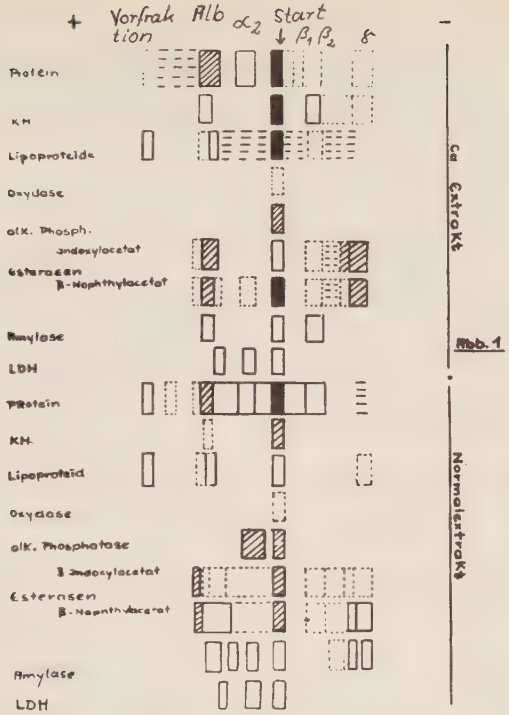


Abb. 1

Abb. 1

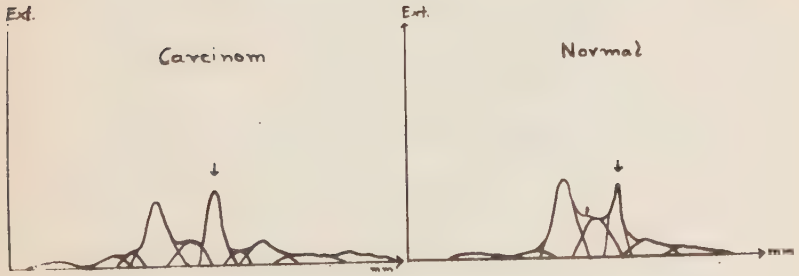


Abb. 2 Protein

III. Versuchsergebnisse:

1) Charakterisierung der Gewebeextrakte auf Grund der elektrophoretisch und biochemisch faßbaren Eigenschaften:

Vorbemerkung:
Bei der nachfolgenden Beschreibung der Befunde werden unter Bezugnahme auf die elektrophoretisch differenzierbaren, bekannten Serumeiweißfraktionen die Symbole dieser Komponenten auf die Organproteide übertragen, ohne daß eine Identität dieser Eiweißkörper mit jenen unterstellt wird.

a) Mit Amidoschwarz 10 B darstellbare Proteine (Abb. 1, Abb. 2):

Der Carcinomextrakt zeigt im anodischen Bereich eine scharf begrenzte, gut anfärbbare Komponente, die elektrophoretisch dem Albumin vergleichbar ist. Auffällig ist weiter eine Albuminvorfraktion, die durch Schlierenbildung mit dem Albumin in Verbindung steht. Zwischen Albumin und der deutlich angefärbten Startlinie liegt ein scharf begrenzbares Protein, das einem $Alpha_2$ - Globulin entsprechen dürfte.
Im kathodischen Bereich treten unmittelbar von der Startlinie zwei Fraktionen, die durch Schlierenbildung verbunden sind, in Erscheinung. Sie entsprechen auf Grund ihrer Positionen dem $Beta_1$ und $Beta_2$ - Globulin. Im deutlichen Abstand hiervon liegt eine schwach angefärbte Komponente, die dem Gamma - Globulin des mensch-

lichen Serums entspricht.

Im Normalextrakt imponiert im anodischen Bereich eine scharf begrenzte, dem Albumin vergleichbare Fraktion, vor der bis zu drei, allerdings wesentlich schwächer anfärbbare Komponenten zu differenzieren sind. Zwischen der deutlich angefärbten Startlinie und der Albuminfraktion liegt eine weitere Komponente, die den $Alpha_2$-Globulinen zuzuordnen ist.

Kathodisch zeigt der $Beta_1$-Bereich Schlierenbildung, die in einer breiten, gut begrenzten $Beta_2$-Fraktion endet. Im Gebiet der Gamma-Globuline findet sich lediglich eine schwache Schlierenbildung.

b) Mit Schiffschen Reagenz darstellbare Proteide (Abb. 1):

Carcinomextrakt:

Neben einer deutlich gefärbten Startlinie tritt im anodischen Bereich nur eine schmale Komponente im Bereich der Albuminfraktion in Erscheinung.

Kathodisch zeigt sich im Bereich der $Beta_2$ - Globuline eine breite, jedoch gut begrenzbare Fraktion, die mit den unscharf begrenzten Gamma - Globulinen durch Schlierenbildung verbunden ist.

Normalschleimhautextrakt:

Neben der gut angefärbten Startlinie tritt im anodischen Bereich nur eine schmale, unscharf begrenzte, zart anfärbbare Komponente im Albuminbereich in Erscheinung.

Der kathodische Bereich zeigt keine Anfärbung.

c) Mit Sudanschwarz B darstellbare Proteide

(Abb. 1):

Carcinomextrakt:

Neben der gut angefärbten Startlinie tritt im Albuminbereich ein Lipoproteidkomplex in Erscheinung, der in zwei Fraktionen zu differenzieren ist. Zwischen diesem Komplex und der Auftragestelle erkennt man Schlierenbildung. Darüber hinaus imponiert weit anodisch eine schmale lipoidhaltige Komponente.
Kathodisch zeigt sich eine breite, unscharf begrenzte, im Beta-Bereich liegende Fraktion. Beiderseits von ihr tritt Schlierenbildung auf.

Normalschleimhautextrakt:

Neben der mäßig angefärbten Startlinie tritt eine gedoppelte Komponente im Albuminbereich in Erscheinung. Auffallend ist außerdem eine schmale, scharf begrenzte Fraktion, weit im anodischen Bereich.
Kathodisch zeigt sich in der Zone der Gamma-Globuline eine breite, unscharf begrenzte Komponente.

d) Mit der Oxydasereaktion darstellbare Proteide:

Sowohl bei der Normal- als auch bei der Carcinomschleimhaut gelang der sichere Nachweis einer oxydaseaktiven Komponente trotz wiederholter Untersuchungen nicht.

Abb. 3

Carcinom

Normal

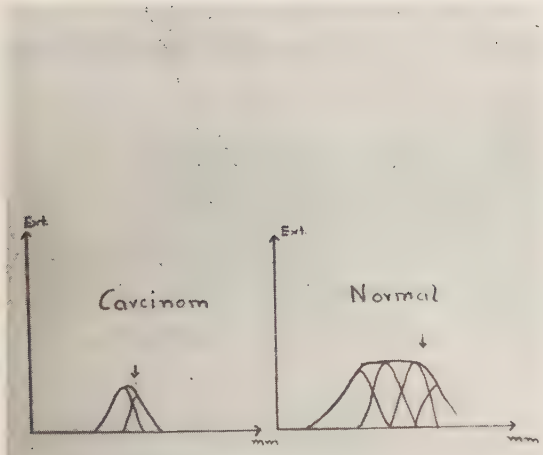


Abb. 3 alk. Phosphatase

e) Mit der alkalischen Phosphatase darstellbare Proteide (Abb. 1, Abb. 3):

Carcinomextrakt:

Hier findet sich lediglich eine Farbreaktion im Bereich der Startlinie und unmittelbar anodisch davor.
Der kathodische Bereich zeigt keine Farbreaktion.

Normalschleimhautextrakt:

Neben der deutlich anfärbbaren Startlinie imponiert ein fermentaktiver Komplex im Bereich der Alpha - Globuline.
Kathodisch zeigt sich keine Farbreaktion.

f) Mit Indoxylacetat und Beta - Naphthylacetat darstellbare esteraseaktive Proteide:

Carcinomextrakt:

Indoxylacetatfärbung: (Abb. 1, Abb. 4b)
Im anodischen Bereich imponiert eine breite Fraktion im Albuminbereich. Ihr direkt vorgelagert ist eine weitere schmale Zone zu erkennen. Die Startlinie ist nicht angefärbt.
Kathodisch tritt eine unscharf begrenzte Bande in Erscheinung, die sich über den Beta/Gamma-Bereich erstreckt und in drei Komponenten differenzierbar ist. Unter ihnen imponiert vor allem eine Fraktion mit der elektrophoretischen Mobilität der Gamma-Globuline.

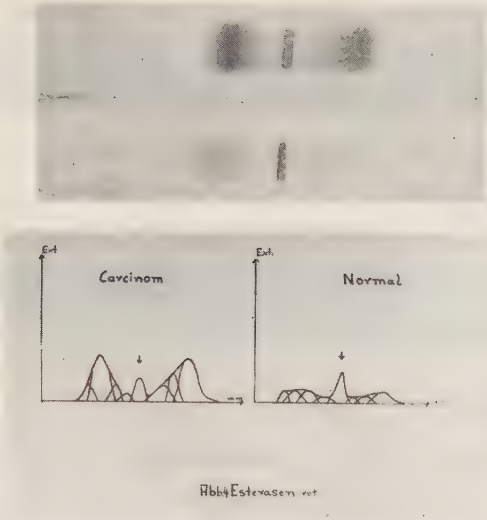

Ext.
Carcinom
Ext.
Normal
Abb4Estevasen rot

Abb. 4a

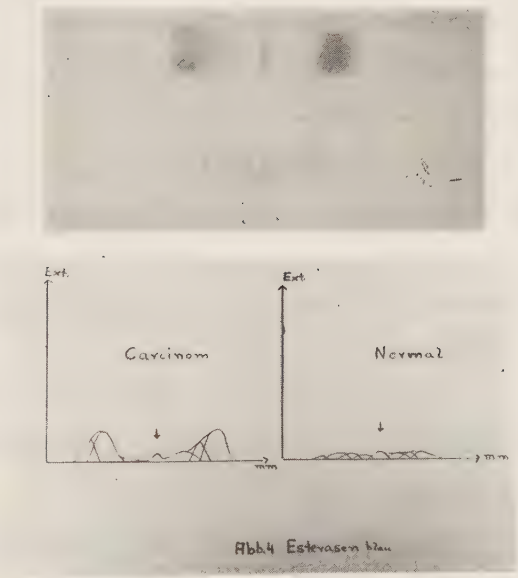

Ext.
Carcinom
Ext.
Normal
mm
mm
Abb.4 Estevasen blau

Abb. 4b

Beta - Naphthylacetatfärbung (Abb. 1, Abb. 4a) :
Im anodischen Bereich tritt wieder die scharf begrenzte Komponente im Albuminbereich in Erscheinung, wobei sich hier zu beiden Seiten je eine schwache tingierte Fraktion anschließt. Außerdem zeigt sich eine unscharf begrenzte Fraktion im Alpha-Bereich.
Die Befunde im kathodischen Bereich entsprechen denen nach Indoxylacetatfärbung.

Normalschleimhautextrakt:

Indoxylacetatfärbung: (Abb. 1, Abb 4b)
Anodisch ist ein im Albuminbereich liegender Komplex nur schwach angefärbt und unscharf begrenzt. Er verläuft schlierenhaft bis zur Auftragestelle. Es imponiert vor dem beschriebenen Komplex eine scharf begrenzte, relativ deutlich anfärbbare Vorfraktion.
Kathodisch lassen sich drei Komponenten zur Darstellung bringen.

Beta - Naphthylacetatfärbung (Abb. 1, Abb. 4a):
Die Befunde im anodischen wie im kathodischen Bereich entsprechen hier in etwa denjenigen nach Färbung mit Indoxylacetat, wobei hier die Differenzierung insgesamt etwas eindeutiger erscheint.

g) Mit Amylasereaktion darstellbare Proteide (Abb. 1, 5):

Carcinomextrakt:
Im Bereich der Albuminfraktion tritt eine scharf be-

Abb. 5

grenzte, hellrosa Aussparung der Stärke - Jodfärbung im Agargrund auf. Zwischen ihr und der Startstelle läßt sich darüber hinaus eine rosafarbene Aufhellungszone erkennen.
Im kathodischen Bereich zeigen sich keine sicher nachweisbaren amylaseaktiven Komponenten.

Normalschleimhautextrakt: _
Im Bereich der Albuminfraktion tritt eine scharf begrenzte, hellrosa Aufhellung auf. Vor ihr und in der Zone zwischen ihr und der Auftragestelle lassen sich außerdem noch insgesamt drei Komponenten erkennen. Kathodisch imponieren im $Beta_2$ / Gamma - Bereich zwei - bei einer Kontrolluntersuchung sogar drei - gut gegeneinander abgrenzbare Aufhellungen.

h) Mit der Laktatdehydrogenasefärbung darstellbare Proteide: (Abb. 6)

Carcinomextrakt :
Die Untersuchung nach agarelektrophoretischer Trennung und anschließender Reaktion zum Nachweis laktatdehydrogenaseaktiver Komponenten mit Hilfe der Tetrazoliummethode ergab zwei färbbare Fraktionen im anodischen Bereich, die eine, in etwa der Zone der $Alpha_2$-Globuline, die andere in der der schnell wandernden $Alpha_1$-Proteine bez. - Albumine.
Darüber hinaus zeichnet sich weit kathodisch eine relativ scharf begrenzte Komponente ab.

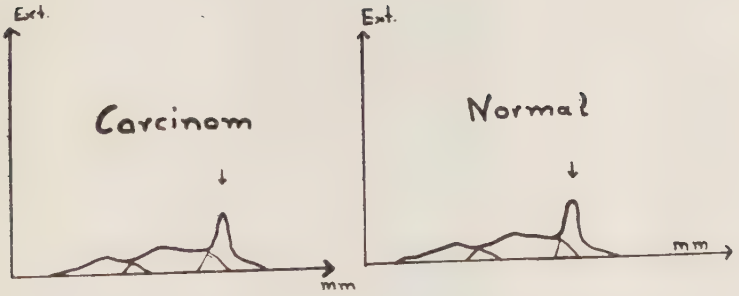


Abb. 6 LDH

Normalschleimhautextrakt:

Im Extrakt der normalen Rektumschleimhaut fielen zwei laktatdehydrogenaseaktive Fraktionen im Bereich der $Alpha_1$- und der $Alpha_2$- Globuline auf.

2) Charakterisierung der Gewebeextrakte auf Grund immunologischer Eigenschaften.

a) Zweidimensionale Immunodiffusion: (23, 38)

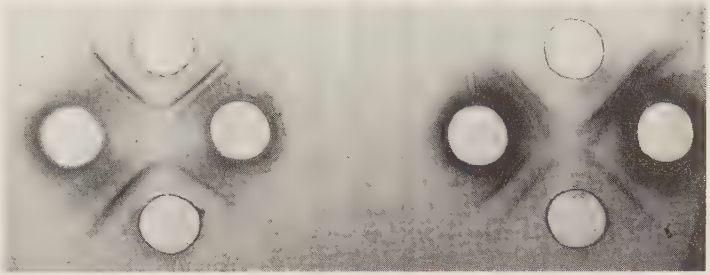
Auf Grund der immunologischen Reaktionen im zweidimensionalen Diffusionstest kann festgestellt werden, daß prinzipiell mit den durch Immunisierung von Kaninchen gewonnenen Antiseren gegen normale Colonschleimhaut als auch gegen den Carcinomextrakt im kreuzweisen Ansatz gegen die beiden Antigene jeweils eine Reihe von Präcipitationssystemen in Erscheinung trat, von welchen ein bis zwei Identitäts-, mehrere Kreuzreaktionen und Phänomene mit nur teilweiser Identität nachweisbar wurden (Abb. 7).

Bei der Versuchsanordnung, bei welcher Carcinomextrakt und Normalserum gegen Antinormalschleimhaut angesetzt wurden, konnte jeweils nur ein Proteinsystem zwischen Carcinom und Normalschleimhaut mit einer Identitätsreaktion unter Beweis gestellt werden. Alle anderen, d.h. bis zu sieben Präcipitationslinien zeigten entweder nur teilweise Identität oder Kreuzungsphänomene.

Bei der Versuchsanordnung, bei welcher Carcinom- und Normalextrakt jeweils gegen das Anticarcimomserum

Ca-Extrakt Ca-Extrakt

S_1 S_2



S_3 S_4

N-Extrakt N-Extrakt

Abb. 7

angesetzt wurden,zeigten sich lediglich ein bis allenfalls zwei Präcipitationssysteme mit Identitätsreaktion bei Diffusion der beiden verwendeten Antiseren gegen das Carcinomeiweiß.Überraschenderweise ließen sich selbst unter den verschiedenen Präcipitationslinien zwischen Carcinomextrakt und den Anticarcinomseren Präcipitationsphänomene mit Sporenbildung (Teilidentität) aufzeigen. Wenigstens zwei der spezifischen Carcinom - Anticarcinom - Präcipitate kreuzten sämtliche Systeme des Anticarcinom - Normalextrakt -Präcipitationssystems.
Nach kreuzweise erfolgter Absorption der Antiseren durch das konträre Antigen,d.h. nach Reinigung der Antiseren von unspezifischen Gewebsantikörpern,war mit dem Anticarcinomserum nur gegen den Carcinomextrakt eine Präcipitationslinie zu erkennen,nicht aber gegen Normalschleimhaut.Das spezifische Anticolonserum dagegen zeigte im allgemeinen zwei schwache Präcipitate sowohl gegen Carcinom- als auch gegen Normalextrakt,welche eine Identitätsreaktion aufwiesen.

b) Immunoelektrophorese:

Bei der immunoelektrophoretischen Analyse der Extrakte aus Carcinomgewebe und Normalschleimhaut gegen Anticarcinom-,Anticolonschleimhaut- sowie gegen Antihumanserum wurden folgende Befunde erhoben:
Am eindrucksvollsten waren die Ergebnisse bei der Reaktion zwischen Colonnormalantigen,sowie Carcinomextrakt gegen Antihumanserum.

Hier zeigten sich gegen Normalextrakt insgesamt sieben Präcipitationslinien, die entsprechend den Fraktionen eines menschlichen Serums folgendermaßen zugeordnet werden können: Eine Präcipitationslinie für Albumine, ein $Alpha_1$ - Globulin, eine weitere $Alpha_1$ - Komponente, die weit entfernt vom Kanal gelegen, relativ unscharf in Erscheinung trat, eine kräftige $Alpha_2$- und ein bis zwei $Beta_1$- Komponenten, eine zwischen Beta und Gamma gelegene Präcipitationslinie, sowie schließlich ein Gamma - Präcipitat, das durch Doppelung und Aufspaltung seiner Linie auffiel.

Gegen den Carcinomextrakt wurden Albumin, zwei unterschiedlich wandernde $Alpha_1$ - Fraktionen, sowie wiederum ein Präcipitat, weit entfernt vom Kanal, nachgewiesen; außerdem waren zwei Fraktionen auffällig, die sich als weit verlaufende Präcipitationsbögen aus dem Alpha- bis in den $Beta_2$ - Bereich erstreckten, von denen die eine wesentlich deutlicher imponierte, als die mit gering unterschiedlicher Mobilität wandernde zweite. Es zeigte sich ferner eine schwache Fraktion im $Beta_2$- Bereich, sowie auch hier wiederum ein Gamma - Präcipitat, das durch seine Unschärfe und Aufsplitterung auffiel.

Die Befunde, die mit den spezifischen Antiseren erzielt wurden, waren qualitativ und quantitativ wesentlich schwächer. Es zeigten sich im allgemeinen sowohl mit Anticolon- als auch mit Anticarcinomserum insgesamt nicht mehr als maximal vier Präcipitationslinien.

Von diesen lag die erste im $Alpha_1$ - Bereich, die zweite im $Alpha_2$ / Beta - Bereich, die dritte, eine verhältnismäßig kurzbogige Fraktion, im $Beta_2$- Bereich, relativ weit vom Antiserumschlitz entfernt. Nur in Einzelfällen wurde noch eine vierte Präcipitationslinie im Bereich der Alpha - Lipoproteide faßbar.

Die mit konträren Antigenen absorbierten Antiseren boten gegenüber den nicht absorbierten folgende Besonderheiten : der elektrophoretisch getrennte Carcinomextrakt ergab gegen spezifisches Anticarcinomserum eine relativ deutlich ausgeprägte Präcipitationslinie im Bereich der $Alpha_2$- Globuline, sowie eine weitaus schwächer entwickelte im $Alpha_1$- Bereich; gegen den Colonnormalextrakt präcipitierte das gleiche Antiserum nur eine feine unscharf begrenzte Präcipitationslinie mit der Wanderungsgeschwindigkeit eines $Alpha_1$- Globulins aus. Das Anticolonserum, das vorher mit Carcinomextrakt versetzt worden war, ergab sowohl gegen Colon- als auch gegen Carcinomextrakt eine relativ deutliche Präcipitationslinie im $Alpha_2$- und ebenfalls im $Alpha_1$-Bereich.

3) Verhalten der Serumeiweißkörper der Kaninchen während der Sensibilisierung (Abb. 8):

Die während der Sensibilisierung mit Carcinom- und Colonextrakt behandelten Kaninchen zeigten im Verlauf des Versuches folgende Änderungen ihrer Serumeiweiß-

rel. %
Albumin
Normalextrakt behandelt
Carcinomextrakt behandelt
Tage
α1 - Globulin
α2 - Globulin
β1 - Globulin
β2 - Globulin
γ - Globulin
65
55
45
35
15
10
5
20
0

Abb. 8

2
3
4
5
6
7
8
9
10

Abb. 9

Abb. 10

körper : Kontinuierlicher Abfall der Albumine bei relativem Anstieg praktisch aller Globuline mit Bevorzugung des Alpha- und Gamma-Systems. Die Dysproteinämie war bei den mit Carcinomextrakt immunisierten Tieren wesentlich stärker ausgeprägt als bei den mit Normalschleimhautextrakten behandelten Kaninchen. Ein Tier aus der Gruppe der mit Carcinomextrakt injizierten Kaninchen ging kurz nach Abschluß der Sensibilisierungsserie plötzlich zugrunde. Die makroskopischen und histologischen Untersuchungen der Organe ergaben auffälligerweise das Bild septischer Nekrosen, die sich insbesondere an der Milz manifestierten (Abb. 9/10).

IV. Diskussion.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, mittels Färbe- und Fermentreaktionen, sowie mit immunologischen Methoden festzustellen, ob zwischen dem Extrakt eines Rektumadenocarcinoms und dem der normalen Rektumschleimhaut charakteristische Unterschiede aufzuweisen sind.
Bei Vergleich des agarelektrophoretisch getrennten Carcinomextraktes mit dem Rektumnormalextrakt ergeben sich zunächst im Proteinmuster nur geringe Unterschiede: Während im Carcinomextrakt der Präalbuminbereich wenig differenziert erscheint, finden sich im Normalextrakt weit anodisch eine gedoppelte Albuminvorfraktion sowie eine unmittelbar vor dem Albumin gelegene Komponente. Dagegen weist der Carcinomextrakt kathodisch wenigstens drei gegeneinander abgrenzbare Fraktionen auf, welche

im Normalextrakt weniger imponieren. Die übrigen Proteinfraktionen können in ihren elektrophoretischen Eigenschaften und Relationen als übereinstimmend betrachtet werden. Dieses Proteinmuster erscheint allerdings, wenn man das bekannte Elektrophoresebild eines normalen Serums zugrundelegt, charakteristisch für Schleimhautextrakt aus Colongewebe, wie bereits früher berichtet (36). Dagegen treten wesentliche Unterschiede zwischen Carcinom- und Normalextrakt nach Kohlehydratfärbung und nach Darstellung der alkalischen Phosphatase in Erscheinung. Ebenso weist das Esterase- und Amylaseproteinmuster beider Extrakte Differenzen auf. Sie bestehen darin, daß das Carcinomgewebe offensichtlich mit Glykoproteidkomplexen stärker angereichert ist als der Normalextrakt und zwar finden sich solche im malignen Gewebe im Albumin- bez. $Alpha_1$- Bereich der Globuline, aber auch an $Beta_2$ und Gamma - Globuline gebunden. Dieser Befund ist insofern von Interesse, als man daraus ableiten könnte, daß allgemein bei Zerfall von Malignomen Gewebsproteide in die Blutbahn des Tumorträgers gelangen, welche möglicherweise zur Entwicklung bestimmter Serumkonstellationstypen führen. Bekanntlich findet man in späteren Stadien einer malignen Erkrankung im Serum des Patienten einen Dysproteinämietyp mit Verminderung der Albumine zugunsten der Globulinfraktionen, insbesondere der Alpha-Globuline. Nach Untersuchungen von SÜDHOF ist dabei der Anteil von Glykoproteiden im Alpha und Beta - Globulinbereich

bei Carcinomkranken im Durchschnitt höher als bei Stoffwechselgesunden.Dies entspricht im Übrigen auch den Befunden anderer Autoren (3, 20).
Bei der Darstellung der alkalischen Phosphatase zeigte sich im Carcinomextrakt eine außerordentliche Armut an diesem Ferment.Es war lediglich an der Auftragestelle eine schwache spezifische Färbung zu erzielen,während im Normalextrakt eine intensive Intensität im Alpha$_2$-Bereich und am Start nachweisbar war. Diese hohe Konzentration an alkalischer Phosphatase in Schleimhautextrakten von Dickdarm deckt sich mit früheren Untersuchungsergebnissen (36).Diese quantitative Unterschiedlichkeit überrascht insofern,als nach CHATTERJEE und Mitarbeitern (2) die Aktivität der alkalischen Phosphatase in Carcinomzellen in Relation stehe zum Wachstum der Zellen,woraus abzuleiten wäre,daß das noch aktive maligne Gewebe besonders reich an alkalischer Phosphatase sein müßte.Dieser Befund könnte dafür sprechen,daß in diesen Fällen die aktiv gebildete alkalische Phosphatase infolge einer erhöhten Zellwandpermeabilität unmittelbar nach außen abgegeben und nicht in der Zelle gespeichert wird.
Ebenso ergaben sich Unterschiedlichkeiten bei der Darstellung esteraseaktiver Fraktionen. Hier fiel allerdings die Anreicherung im Carcinomgewebe auf, während im Extrakt der normalen Colonschleimhaut insgesamt wenig gut differenzierbare Zonen anodisch wie

auch kathodisch nachweisbar waren.Dies steht in gewissen Widerspruch zu älteren Untersuchungsergebnissen (EDELBACHER) mit allerdings anderer Methodik,wonach die Lipase- und Esteraseaktivität bei Tumoren gegenüber Normalgewebe herabgesetzt seien.Die hier vorliegenden Befunde lassen demgegenüber vermuten,daß im Rektumcarcinomgewebe Esterasen depotfähig und aktiv vorliegen. Möglicherweise ist diese Diskrepanz der einzelnen Befunde auf unterschiedliche Aktivitätsphasen der untersuchten Tumoren zurückzuführen.Es wäre infolgedessen zu prüfen,ob - wenigstens in Einzelfällen - ebenso wie die Laktatdehydrogenase auch Esterasen als Indikatoren im Ablauf maligner Erkrankungen in der klinischen Diagnostik Bedeutung erlangen können. Schwierigkeiten bereitet die Deutung der Befunde nach Behandlung der elektrophoretisch getrennten Extrakte mit Stärkelösung und nachfolgender Jod - Stärkereaktion zum Nachweis stärkeabbauender Fermente.Hier ergab sich nämlich im Extrakt der normalen Colonschleimhaut im Bereich der $Beta_2$ - Gamma - Globuline eine einwandfreie Stärkeabbauzone mit zwei - in einem Fall sogar mit drei - scharf abgrenzbaren Unterfraktionen,die auf das Vorhandensein entsprechender amylaseaktiver Komponenten schließen läßt.Dies deckt sich mit früheren Untersuchungsergebnissen (**36**).Derartig starke Aufhellungszonen finden sich im Carcinomextrakt nicht;sie sind zwar angedeutet nachweisbar,lassen aber auf eine weit weniger

hohe Amylaseaktivität schließen. Im Bereich der anodisch gewanderten Fraktionen ließen sich außerdem mehrere, relativ schmale Zonen mit rosavioletter Färbung aufzeigen, die auf die Existenz von Erythrodextrinen bez. Achroodextrinen hinweisen, d.h. auf die Tatsache, daß auch in diesem Bereich Stärkeabbauvorgänge stattgefunden haben müssen. Hier finden sich ebenfalls Unterschiede in den beiden verglichenen Extrakten, wobei wiederum der Normalextrakt reicher an derartigen Fraktionen ausgestattet war. Schließlich fielen bei Nachfärbung mit Jod sowohl im Carcinom - als auch im Normalextrakt je eine scharf begrenzte jodaffine Fraktion im Albuminbereich und im äußersten Gamma- Globulinbereich auf, deren Bedeutung noch unklar ist. Untersuchungen von GASSER (4) bestätigen insofern die vorliegenden Befunde, als bei quantitativen Diastasebestimmungen in Gewebshomogenaten von Gliomen, Sarkomen und nicht differenzierten Carcinomen, sowie auch von Rektumcarcinomen, nur geringe Diastasemengen nachweisbar waren.

Die vorliegenden Befunde über die Laktatdehydrogenaseaktivität in beiden Extrakten zeigten weder quantitativ noch qualitativ nennenswerte Unterschiede auf. Unter Berücksichtigung der Angaben der einschlägigen Literatur ist festzustellen, daß die vorliegenden Ergebnisse in ihrer Ausbeute etwas geringer ausfielen. Dort wird, allerdings mit anderer Methodik, über fünf Fraktionen

im Colonschleimhautextrakt berichtet,während hier nur zwei,allenfalls drei Komponenten und zwar die Fraktionen I und II,in Einzelfällen auch die Fraktion III,nachweisbar waren.Etwas überrascht die Tatsache der relativen Gleichförmigkeit des Isoenzymmusters in beiden Extrakten,obwohl man erwartet hätte,daß die Laktatdehydrogenase im Tumorextrakt quantitativ angereichert und nach den Untersuchungen anderer Autoren auch qualitative Unterschiede aufweisen sollte.Möglicherweise entstammen die in pathologischen Seren nachweisbaren Laktatdehydrogenaseaktivitäten bei generalisierter Carcinomatose nicht oder nicht allein dem Tumorgewebe, sondern auch dem bei Infiltration des Malignoms geschädigten umgebenden Organgewebe.Somit wäre einerseits erklärbar,daß der analysierte Organextrakt infolge unmittelbarer Eliminierung der gebildeten Laktatdehydrogenase keine tumorspezifischen Isoenzyme und erst recht keine quantitative Anreicherung aufweist und es wäre andererseits ein diagnostisches Kriterium im Laktatdehydrogenaseverteilungsmuster des Patientenserums als Indikator der Tumorlokalisation,nicht allerdings der Tumorqualität zu erblicken.

Die Feststellung,daß in beiden Extrakten keine Oxydaseaktivität nachweisbar wurde,muß in erster Linie dahingehend gedeutet werden,daß die Konzentrationen einer derartigen fermentaktiven Komponente zu gering waren und somit dem Nachweis entgingen.

Aus den Ergebnissen mit Immunopräzipitationstechniken ließ sich zunächst ableiten, daß Carcinomextrakt und Extrakt aus dem zugrundeliegenden normalen Gewebe in vorliegender Versuchsanordnung nur ein sicher nachweisbares gemeinsames Protein besitzen und daß die meisten anderen darstellbaren Eiweißkomponenten durch unterschiedliche Struktur bez. unterschiedliche determinante Gruppen ausgestattet sind. Der kreuzweise erfolgte Absorptionsversuch zeigte jedoch, daß im Carcinomextrakt offenbar wenigstens ein antigener Faktor als Malignitätskriterium, d.h. tumorspezifisch zu werten ist. Über die Tatsache hinaus, daß Tumorgewebe prinzipiell Antigenität besitzt (3,11,17,47) haben Studien von ZILBER bei ähnlicher Versuchsanordnung wie der hier vorliegenden gleiche Befunde ergeben (47). Der Autor berichtet allerdings über Magencarcinom im Vergleich zu normalen Gewebe, wobei er auch bei Ansatz des mit Carcinomextrakt gereinigten Antiserums gegen Normalgewebe eine einzelne spezifische Präzipitatbildung nur gegen das verwendete Antigen aus Normalgewebe und nicht gleichzeitig gegen Carcinomextrakt nachweisen konnte. Er berichtet allerdings darüber hinaus, daß auch gereinigte Antimilzsera mit Magenkrebsantigen eine positive Reaktion ergaben. ZILBER folgert aus seinen Versuchen, daß das Krebsgewebe verschiedene Antigene enthält, von welchen einige spezifisch für die Gewebeherkunft zu werten seien.
Für die Annahme spezifischer antigener Tumorfaktoren sprechen im übrigen auch die Immunisierungsergebnisse

von HACKETT und LAWSON (16), wonach die Seren von tumortragenden Mäusen im Vergleich zu gesunden Tieren bei Sensibilisierung von Kaninchen zu einer größeren Antikörperausbeute führen. Die Autoren erklären dies spekulativ damit, daß ein Teil der Antigene im Serum gesunder Mäuse als Hapten, oder als niedermolekulares Protein vorliegt, in tumortragenden Tieren jedoch als Vollantigen.

Die immunoelektrophoretischen Analysen haben gezeigt, daß eine Reihe von Proteinen im Carcinom ebenso wie im Normalgewebe mit physiologischen Serumeiweißkörpern des Menschen Identitäts- oder Teilidentitätsreaktionen aufweisen, und daß Carcinomextrakt und Normalextrakt infolge ihres Präzipitationsmusters gegen ihre spezifischen wie auch gegen die konträren Antiseren keine tiefgreifenden Unterschiedlichkeiten aufwiesen. Bei Vergleich der Antigene gegen das Antihumanserum und gegen die spezifischen Antiextraktseren ergeben sich auf Grund der verschiedenen Formen und der Lokalisation der Präzipitationslinien einwandfreie Unterschiede, die mit Bezug auf die Organextrakte folgendermaßen charakterisiert werden können: es fällt eine Alpha-Komponente auf, deren Zuordnung zu bekannten Serumeiweißkörpern nicht ohne weiteres möglich ist. Sie entspricht einem Protein mit elektrophoretischer Beweglichkeit zwischen $Alpha_1$- und $Alpha_2$-Serumglobulinen; ferner imponiert eine kurzbogige $Beta_2$-Fraktion,

die in menschlichen Seren in dieser Form vermißt wird. Eklatante Unterschiede im Präzipitationsmuster der verschiedenen getrennten Antigene ergaben sich jedoch nicht. Die Immunoelektrophorese hat aber auch in den vorliegenden Studien zur Identifizierung der Präzipitationsphänomene auf Grund der zweidimensionalen Immunodiffusion beigetragen: Die dort festgestellten Einzelpräzipitate erwiesen sich als Alpha - Globuline, das stark entwickelte Präzipitat zwischen Carcinomextrakt und spezifischen Anticarcinomserum als $Alpha_2$-Globulin. Es ist unseres Erachtens wahrscheinlich, daß dieses $Alpha_2$- Globulin mit einem $Alpha_2$- Serumfaktor in den Seren tumortragender Ratten identisch ist, auf welches DECKERS und MAISIN (3) auf Grund ihrer immunologischen Studien aufmerksam wurden. Ob es sich bei diesem hitzestabilen Protein um liberiertes Tumoreiweiß handelt, oder um ein sekundäres Stoffwechselphänomen ist nicht ohne weiteres zu unterscheiden. Immerhin würden auch diese Beobachtungen zum Verständnis von Dysproteinämien bei malignen Erkrankungen beitragen, womit zugleich eine Abgrenzung möglich wäre zwischen gleichartigen Serumkonstellationstypen im Verlaufe akut entzündlicher nicht maligner Erkrankungen. Insgesamt kann man auf Grund der immunologischen Ergebnisse feststellen, daß Tumorgewebe prinzipiell antigenwirksam ist, und daß es sich in einzelnen Antigenen von vergleichbaren Normalgewebe unterscheidet und daß

offenbar wenigstens ein bis zwei dieser Antigene als Indikatoren im Verlaufe von malignen Erkrankungen eine Rolle spielen, sei es, daß es gelingt, diese mit spezifischen Antiseren oder sei es deren Autoantikörper mit Testantigenen im Serum tumortragender Individuen nachzuweisen.

Schließlich sei kurz auf die Ergebnisse der Serumeiweißuntersuchungen der Kaninchen während der Sensibilisierung eingegangen. Hier zeigte sich erwartungsgemäß, daß bei den vier behandelten Kaninchen unter der Sensibilisierung in typischer Weise ein Abfall der Albumine mit relativem Anstieg der Globuline, insbesondere der Alpha- und Gamma - Globuline, eintrat. Die Erklärung dürfte im wesentlichen in der an Gamma - Globuline gebundenen Antikörperproduktion zu suchen sein; die Alpha-Globulinvermehrung kann als Ausdruck des relativ akuten Immunisierungsprinzipes angesehen werden. Auffällig war darüber hinaus, daß die mit Carcinomextrakt behandelten Tiere im gleichen Zeitraum tiefer greifende Veränderungen in ihrer Serumproteinkonstellation aufwiesen als die Kaninchen, die mit normalem Schleimhautextrakt immunisiert worden waren. Vielleicht ist auch hier, wie bereits oben erwähnt (16), die Existenz eines allerdings unspezifischen Faktors im Carcinomextrakt für die offenbar stärkere Antigenität verantwortlich zu machen. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß eines der beiden Carcinomtiere wenige Tage nach Abschluß der Sensibilisierungsserie an hochgradigen nekrotisierenden Prozessen im Sinne septischer Milznekrosen zugrunde ging.

V. Zusammenfassung :

Vergleichende Untersuchungen der Extrakte von normaler und maligne entarteter Rektumschleimhaut haben, gemessen an deren elektrophoretisch und biochemisch faßbaren Proteineigenschaften, sowie an deren immunologischen Besonderheiten, gewisse Unterschiede aufgezeigt.
Diese bestehen vor allem in der Verteilung des Glykoproteidmusters, verschiedener Fermente, wie der Esterasen, der Laktatdehydrogenase und der alkalischen Phosphatase; sie bestehen insbesondere in der unterschiedlichen Antigenität.
Es wird diskutiert, ob sich aus diesen Befunden diagnostisch verwertbare Indikatoren im Sinne eines serologisch faßbaren Malignitätskriteriums ableiten lassen.

LITERATURVERZEICHNIS

1) BÄR,U., E. SCHMIDT und F. SCHMIDT :
Enzym - Muster und Isoenzyme menschlicher Tumoren.
Klin. Wschr. 41,68 (1963).

2) CHATTERJEE, P.De, K. BHATTACHENYA et S. MITRA :
Quantitative assessment of alkaline phosphatase activity in growth and differentiation patterns of normal and malignent cells.
Cancer (Philad.) 14, 502 - 506 (1961).

3) DECKERS, C. and J. MAISIN :
Non - specific precipitation patterns obtained in double diffusion between serum and extracts of normal organs and tumors.
Nature (Lond.) 197,397 (1963).

4) GASSER, P. :
Über erhöhte Serumamylase bei bösartigen Tumoren.
Helv.med.Acta 26, 687-690 (1959).

5) GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH :
Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese.
Z. Immun. Forsch. 114, 72-84 (1957).

6) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und I. DÜBELER :
Vergleichende elektrophoretische und immunoelektrophoretische Studien an Organextrakten des menschlichen Magens.
Gastroenterologia 98, 30-47 (1962).

7) GÖTZ,H. und F. SCHEIFFARTH :
Immunoelektrophoretische Untersuchungen an Organextrakten.
Klin. Wschr. 41, 587-589 (1963).

8) GÖTZ, H.,F. SCHEIFFARTH und N. AL-SAFFAR :
Weitere agarelektrophoretische Studien an menschlichen Organextrakten.
Med. exp. 10, 27-33 (1964).

9) GÖTZ,H., F. SCHEIFFARTH und G.GAST:
Agarelektrophoretische Studien an Leberextrakten.
Z. Gastroenterologie 2 / 3 , 148-156 (1964).

10) GÖTZ,H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN :
Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel.
Z. Gastroenterologie 2/ 2 , 76-78 (1964).

11) GOSTEV,V.S., A.E. AZLEZKAYA, A.R. SAAKOV, D.G. GRIGOVIAN, K.G. CHAMOVA, U.V. ZIKOV,A.A.PERELAZNY, N.M. MAZINA, N.A. KULAGUIN and G.M. MAKOVEEVA :
The study of antigenic properties of human tumour fractions deprived of soluble proteins.
(Inst. of Exp. Biol.,Moscow) Vop. Onkol. 8, Nr.9, 18-26 (1962).

12) GRABAR,P. et C. A. WILLIAMS :
a) Méthode permettant l-etude conjugée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d 'un mélange de protéines;application au serum sanguin.
Biochim. biophys. Acta 10, 193 (1953).

b) Méthode immuno - électrophorétique d' analyse de mélanges de substances antigéniques.
Biochim. biophys. Acta 17, 67 (1955).

13) GRABAR, P. :

a) Études sur les protéines à l'aide de méthodes immunochimiques.
Bull. Soc. Chim. biol. 36, 65 (1954).

b) Die Anwendung immunochemischer Methoden bei der Untersuchung der Proteine, insbesondere der Serumproteine.
Dtsch. med. Wschr. 79, 1916 (1954) .

14) GRABAR, P. et P. BURTIN :

a) Analyse immuno-électrophorétique. Application avec liquides biologiques humains.
Masson & Cie., Paris 1960 .

b) Immunoelektrophoretische Analyse.
Elsevier Publ. Comp. Amsterdam 1964 .

15) GREENSTEIN, J.P. :

Biochemistry of cancer.
2. Ed. New York, Acad. Press 1954 .

16) HACKETT, R. and H. LAWSON :

An attempt to demonstrate immunological differences between the sera of normal and of carcinoma - bearing mice.
Med. J. Aust. 47, II , 896-898 (1960) .

17) HESS, B. und S. J. WALTER :

Über das Protein der Laktatdehydrogenase im menschlichen Serum und Geweben.
Klin. Wschr. 21, 1080 (1960) .

18) HESS, F. :

Serumeiweißanalysen bei Geschwulstkrankheiten mit Hilfe der Hochspannungselektrophorese.
Strahlentherapie 115 , 212-218 (1961) .

19) HEINKEL, K. :
In: N. Henning: Klinische Laboratoriumsdiagnostik, Urban und Schwarzenberg, München und Berlin, 2. Aufl. 1960, S.431-437 .

20) KUZMENKO, L.N., M.D. PODILTSCHAK und D.A.MAKAR :
Elektrophoretische Untersuchung der Plasmaeiweiße beim experimentellen Krebs.
Acta biol. med. german. 5 , 398-408 (1960) .

21) MERTEN, R. :
Enzymverteilungsmuster im Plasma Krebskranker.
Bull. schweiz. Akad. med. Wiss. 16, Fasc.6,466 (1960).

22) NAIRN, R.C., H.G. RICHMOND, M.G. Mc. ENTEGART ,and J.E. FOTHERGILL :
Immunological differences between normal and malignant cells.
Brit. med. J. 1960, II , 1335-1340 .

23) OUCHTERLONY ,Ö. :
Antigen antibody reactions in gels.
Acta path. microbiol. scand. 26, 507 (1949) .

24) PANTELOURIS, E.M. :
Starch electrophoresis of soluble tumour proteins.
Brit. J. Cancer 17, 179-182 (1963) .

25) PFLEIDERER , G. und E.D. WACHSMUTH :
Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Laktatdehydrogenase menschlicher Organe.
Biochem. Z. 334, 185 (1961).

26) RICHTERICH , R. and A. BURGER :
Lactic dehydrogenase isoenzymes in human cancer cells and malignant effusions.
Enzymol. biol. clin. 3, 65 (1963).

27) ROY , A.B. :
On electrophoresis studies of neoplasms.
Acta Un. int. Cancr. (Louvain) 16, 1157-1160 (1960).

28) SCHEIDEGGER, J.J.:
a) Une micro-méthode de l'immuno-électrophorèse.
Int. Arch. Allergy 7, 103 (1955).
b) L'immuno-électrophorèse .
Semaine Hôp. Paris 31,2119 (1956).

29) SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und F. CZAGANY :
Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplasminkonzentration im Serum.
Med. Welt 1961: 1449-1453 (Nr. 28).

30) SCHEIFFARTH,F., H. WARNATZ und H. GÖTZ:
Zum qualitativen und quantitativen Nachweis der alkalischen Phosphatase im Serum mit Hilfe der Agarelektrophorese.
Med. Welt 1961 : 2216-2220 (Nr. 43).

31) SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und H. KNOPFF :
Die Bedeutung kombinierter Färbeverfahren nach immunoelektrophoretischer Analyse pathologischer Seren.
Acta haemat. 26: 169-181 (1961).

32) SCHEIFFARTH,F., H.GÖTZ und G. SCHERNTHANER :
Immunoelektrophoretische Studien zur Frage der Identität menschlicher Organ- und Serumproteine.
Clin. Chim. Acta 6 , 481-492 (1961).

33) SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und G. THUMA :
Immunoelektrophoretische Untersuchungen zur Frage der Identität menschlicher Organ- und Serumproteine.
Clin. Chim. Acta 7 , 355-365 (1962).

34) SCHEIFFARTH,F. und H. GÖTZ :
Eine Methode zum Diastasenachweis agarelektrophoretisch getrennter Proteingemische.
Klin. Wschr. 42, 130 (1964) .

35) SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ und D. HOFFMANN :
Agarelektrophoretische Studien zur Charakterisierung von menschlichen Milzextrakt.
Z. klin. Chem. 2 / 5 , 142-146 (1964) .

36) SCHEIFFARTH,F., H. GÖTZ, H. WARNATZ und G. AUTENRIETH:
Biochemische und immunologische Studien am Proteinextrakt der normalen Colonschleimhaut.
Arbeit im Druck.

37) SCHEIFFARTH,F., H.GÖTZ und S. EBERT:
Über esteraseaktive Fraktionen in verschiedenen menschlichen Organextrakten.
Arbeit im Druck.

38) SCHWICK,G. und K. STÖRIKO :
Qualitative und quantitative Plasmaproteinbestimmung durch Immunopräzipitation.
Laboratoriumsblätter,Behringwerke A.G.,Marburg, Mai 1964 .

39) STARWEATHER, W.H. and H.K. SCHOCH:
Some observations on the lactatdehydrogenase of human neoplastic tissue.
Biochem. biophys. Acta (Amst.) 62, 440 (1962).

40) SÜDHOF,H. :
Das Verhalten der proteingebundenen Kohlehydrate innerhalb der einzelnen Serumeiweißfraktionen bei Carcinomkranken.
Dtsch. Arch. klin. Med. 209, 383-391 (1964).

41) VAN DER HELM, H. J. :
A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.
Clin. chim. Acta 7, 124 (1962) .

42) URIEL, J. et GRABAR,P.:
Emploi de colorants dans l'analyse électrophorétique en milieu gélifié.
Ann. Inst. Pasteur 90, 429 (1956).

43) URIEL, J., P.GRABAR et CH. WUNDERLY :
Étude d'un serum de macroglobulinémie par l'électrophorèse en gélose et sur papier et par ultracentrifugation.
Clin. chim. Acta 2 , 35-42 (1957) .

44) URIEL,J. :
Étude de l'activité enzymatique de la céruloplasmine du sérum humain après électrophorèse en gélose.
Bull. Soc. Chim. biol. 39, Suppl.I, 105-118 (1957).

45) WETTER, O., CH. HERTENSTEIN, K. JAHNKE und R. MERTEN :
Ultrazentrifugenuntersuchungen zum Sedimentationsverhalten isolierter Gamma-Globuline Gesunder und Krebskranker.
Z. Naturforschung 19b, 60-63 (1964).

46) WILLIAMS, C.A. and P. GRABAR:
a) Immunoelectrophoretic studies on serum proteins.
I. The antigens of human serum.
J. Immunol. 74 , 158 (1955).
b) Immunoelectrophoretic studies on serum proteins.
II. Immunsera: Antibody distribution.
J. Immunol. 74 , 397 (1955).

47) ZILBER, L.A. :
Study of the tumour specifity of gastric cancer tissue.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 101, 264-270 (1962).

An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. N. Henning für die Übernahme des Referates ergebenst gedankt.

Herrn Prof. Dr. F. Scheiffarth danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und das stete freundliche Entgegenkommen und für seine Anregungen, die er mir während der Arbeit zuteil werden ließ.

Meinen herzlichen Dank möchte ich auch Frl. Dr. H. Götz aussprechen, die mir stets mit Rat und Tat in allen Fragen zur Seite stand.

Nicht zuletzt sei auch dem pathologischen Institut für die freundliche Überlassung der Organe gedankt.

Lebenslauf

Am 8.3.1941 wurde ich, Wolfgang S c h r a m m, als einziges Kind des Oberstudienrates Otto Schramm und seiner Ehefrau Dr. med. Hildegard Schramm in Breslau geboren.

Von September 1947 bis Juli 1951 besuchte ich in Regensburg die Volksschule und anschließend das Neue Gymnasium. Hier legte ich im Juli 1960 die Reifeprüfung ab.

Mein Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1960 an der Friedrich - Alexander - Universität in Erlangen. Hier bestand ich im Sommersemester 1961 das Vorphysikum und im Wintersemester 1962/63 das Physikum. Meine klinischen Semester studierte ich ebenfalls an der Friedrich - Alexander - Universität in Erlangen, wo ich am 4.10.1966 mein Staatsexamen ablegte.

Erlangen, den 5.1Ø.1966

Schramm

Wolfgang Schramm

Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5